

NEW FIBROBLAST GROWTH FACTOR AND GENE CODING FOR THE SAME

Publication number: JP11332570

Publication date: 1999-12-07

Inventor: ITO NOBUYUKI

Applicant: SHIONOGI & CO

Classification:

- international: C12N15/09; A61K38/22; A61P5/00; A61P11/00;
A61P43/00; C07K14/50; C07K16/22; C12P21/02;
C12P21/02; C12N15/09; A61K38/22; A61P5/00;
A61P11/00; A61P43/00; C07K14/435; C07K16/18;
C12P21/02; C12P21/02; (IPC1-7): C12N15/09;
A61K38/22; C07K14/50; C07K16/22; C12P21/02

- European:

Application number: JP19980145478 19980527

Priority number(s): JP19980145478 19980527

Report a data error here

Abstract of JP11332570

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new protein which has a specific amino acid sequence, expresses specifically in developing cartilage-related tissues and mature lung tissues, and is useful for the treatment, for example, of histogenetic troubles and lung tissue troubles. **SOLUTION:** This protein has an amino acid sequence of position 28-207 or position 17-207 shown by formula I, II, or III, or an amino acid sequence which one or more amino acid(s) is/are substituted in, deleted from, or inserted into the amino acid sequence. This protein is a fibroblast growth factor. It is preferable to prepare a medicine using the protein.

```

ATG TAT TCT GAG GAG TCC GCG GCG ACT GCG CTG TCT TTA CAG TTC CTG 48
Met Tyr Ser Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Cys
3 10 15

```

```

AGC GTG ACC AAG AGC TTC GAG GAG ATC GCG GCG ACA CAG CCG GCG 621
Thr Val Thr Leu Arg Ser Ser Arg Asp Thr Arg Pro Thr Val Pro Ala
100 200 205

```

```

ATG TAT TCA GCG GCG TCC GCG GCG ACT GCG CTG TCT TTA CAG TTC CTG 48
Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Pro Leu
5 10 15

```

```

ACA GGT ACT AAG GCA TCC GCG GCG ATC GCG GCG ACT CAG CCG GCG 621
Thr Val Thr Leu Arg Ser Ser Arg Ala Thr Arg Pro Thr Val Pro His
100 200 205

```

```

ATG TAT TCA GCG GCG TCC GCG GCG ACT
TGC CTG TGT TTA CAG TTT CTA 48
Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ser Ala Cys Thr
Cys Leu Cys Leu His Pro Leu
5

```

```

ACA GTC ACC AAG GCA TCC GCG GCG ATC
GCG GCG ACT CAG CCG GCG 621
Thr Val Thr Leu Arg Ser Ser Arg Ala Thr
Arg Pro Thr His Pro Gly
100 200

```

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-332570

(43)公開日 平成11年(1999)12月7日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 6 1 K 38/22	A C D	C 0 7 K 14/50	
	A D S	16/22	
	A E E	C 1 2 P 21/02	C
C 0 7 K 14/50		A 6 1 K 37/24	A C D
審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 15 頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願平10-145478	(71)出願人	000001926 塩野義製薬株式会社 大阪府大阪市中央区道修町3丁目1番8号
(22)出願日	平成10年(1998)5月27日	(72)発明者	伊藤 信行 滋賀県大津市柳川1-24-7
		(74)代理人	弁理士 山内 秀晃

(54)【発明の名称】 新規な線維芽細胞成長因子及びそれをコードする遺伝子

(57)【要約】

【課題】医薬として有用な新規線維芽細胞成長因子、該線維芽細胞成長因子をコードする遺伝子、該線維芽細胞成長因子に対する抗体及び該線維芽細胞成長因子を含有する医薬を提供する。

【解決手段】本発明のうち、新規なヒト線維芽細胞成長因子は、配列番号：1のアミノ酸配列を有する。この新規線維芽細胞成長因子、該線維芽細胞成長因子をコードする遺伝子、該線維芽細胞成長因子に対する抗体及び該線維芽細胞成長因子を含有する医薬は、組織形成障害の予防、治療もしくは診断または肺組織障害の治療に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】配列番号：1、配列番号：2もしくは配列番号：3のいずれかに記載のアミノ酸残基28位から207位のアミノ酸配列を有するタンパク質、またはこれらアミノ酸配列に1あるいは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有するタンパク質。

【請求項2】配列番号：1、配列番号：2もしくは配列番号：3のいずれかに記載のアミノ酸残基1位から207位のアミノ酸配列を有するタンパク質、またはこれらアミノ酸配列に1あるいは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有するタンパク質。

【請求項3】請求項1または2に記載のアミノ酸配列の48位のセリンがシステインに置換したアミノ酸配列を有するタンパク質、またはこれらアミノ酸配列に1あるいは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有するタンパク質。

【請求項4】配列番号：1記載のアミノ酸残基28位から207位のアミノ酸配列、または該アミノ酸配列に1あるいは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有する請求項1記載のタンパク質。

【請求項5】配列番号：1記載のアミノ酸残基1位から207位のアミノ酸配列、または該アミノ酸配列に1あるいは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有する請求項2記載のタンパク質。

【請求項6】線維芽細胞成長因子である請求項1～5に記載のタンパク質。

【請求項7】請求項1～6に記載のタンパク質をコードする遺伝子。

【請求項8】配列番号：1、配列番号：2もしくは配列番号：3のいずれかに記載の82位から621位の塩基配列からなる遺伝子、または該遺伝子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする遺伝子。

【請求項9】配列番号：1、配列番号：2もしくは配列番号：3のいずれかに記載の1位から621位の塩基配列からなる遺伝子、または該遺伝子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする遺伝子。

【請求項10】請求項1～6のいずれかに記載のタンパク質に対する抗体。

【請求項11】請求項1～6のいずれかに記載のタンパク質を含有する医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、新規な線維芽細胞成長因子及びそれをコードする遺伝子に関するものである。

【0002】

【従来の技術】線維芽細胞成長因子(Fibroblast growth factors: FGF)の原型であるFGF-1(aFGF)およびFGF-2(bFGF)は、もともと脳および脳下垂体より線維芽細胞のマイトジェンとして単離されたものである。現在までFGFファミリーは、FGF-1からFGF-17までの17種が知られており、これらは、30～60%のアミノ酸同一性を有する核となる120以下のアミノ酸残基を保持している。

【0003】FGF-1およびFGF-2は、発達中及び成体の組織において広く発現しており、血管新生、細胞分裂促進、組織分化および組織損傷の修復を含む多様な生物学的活性を有するポリペプチドである(Baird, A., and Klagsbrun, M. (1991) *Cancer Cells* 3, 239-243; Burgess, W. H., and Maciag, T. (1989) *Annu. Rev. Biochem.* 58, 575-606)。

【0004】FGF-3は、マウス乳腺癌ウイルスによる活性化の一般的指標になるものとして同定された(Dickson, C., Fuller-Pace, F., Kiefer, P., Acland, P., MacAllan, D., and Peters, G. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 683, 18-26)。

【0005】FGF-4からFGF-6は発癌遺伝子産物として単離された(Yoshida, T., Sakamoto, H., Miyagawa, K., Sugimura, T., and Terada, M. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 27-37; Goldfarb, M., Bates, B., Drucker, B., Hardin, J., and Haub, O. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 38-52; Coulier, F., Ollendorff, V., Marics, I., Rosnet, O., Battoz, M., Planche, J., Marchetto, S., Pebusque, M.-J., de Lapeyriere, O., and Birnbaum, D. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 53-61)。

【0006】FGF-7からFGF-9は培養細胞のためのマイトジェンとして同定された(Aaronson, S. A., Bottaro, D. P., Miki, T., Ron, D., Finch, P. W., Fleming, T. P., Ahn, J., Taylor, W. G., and Rubin, J. S. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 62-77)。

【0007】FGF-10は、homology-based PCR法によりラットの肺から検出された(Yanase, M., Miyake, A., Tagashira, S., and Itoh, N. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 15918-15921)。

【0008】FGF-11からFGF-14(FGF homologous factors (HIFs)-1 to -4)は、ヒト網膜より、ランダムcDNA配列決定法、データベース検索およびhomology-based PCR法により同定された(Smallwood, P. M., Munoz-Sanz, J., Tong, P., Macke, J. P., Hendry, S. H., Gilbert, D. J., Copeland, N. G., Jenkins, M. A., and Nathans, J. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 9850-9857)。

【0009】FGF-15は、キメラホモオドメイン腫瘍性蛋白質の下流のターゲットとして同定された(McWhirter, J. R., Goulding, M., Weiner, J. A., Chun, J., and Murre, C. (1997) *Development* 124, 3221-3232)。

【0010】FGF-16とFGF-17それぞれは、homology-bas

ed PCR法によりラットの心臓および胎児から単離された (Miyake, A., Konishi, M., Martin, F.H., Hernday, N.A., Ozaki, K., Yamamoto, S., Mikami, M., Arakawa, T., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243, 148-152; Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191).

また、これらFGFsは発達中の細胞および成熟細胞の両方で発現し、重要な役割を果たしている。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、医薬として有用な新規線維芽細胞成長因子、該線維芽細胞成長因子をコードする遺伝子、該線維芽細胞成長因子に対する抗体及び該線維芽細胞成長因子を含有する医薬を提供することを目的とする。

【0012】

【課題を解決するための手段】本発明者は、鋭意研究の結果、すでに知られていた17種のFGFファミリーとは異なる新規な線維芽細胞成長因子(以下、FGF-18と略す)及びそれをコードする遺伝子を見出した。すなわち、本発明は、配列番号: 1、配列番号: 2もしくは配列番号: 3のいずれかに記載のアミノ酸残基28位から207位のアミノ酸配列を有するタンパク質、またはこれらアミノ酸配列に1あるいは複数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有するタンパク質; 配列番号: 1、配列番号: 2もしくは配列番号: 3のいずれかに記載のアミノ酸残基1位から207位のアミノ酸配列を有するタンパク質、またはこれらアミノ酸配列に1あるいは複数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有するタンパク質; 本発明のアミノ酸配列の48位のセリンがシステインに置換したアミノ酸配列を有するタンパク質、またはこれら配列に1あるいは複数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有するタンパク質; 配列番号: 1記載のアミノ酸残基28位から207位のアミノ酸配列、または該アミノ酸配列に1あるいは複数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有する本発明のタンパク質; 配列番号: 1記載のアミノ酸残基1位から207位のアミノ酸配列、または該アミノ酸配列に1あるいは複数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入あるいは付加されたアミノ酸配列を有する本発明のタンパク質; 線維芽細胞成長因子である本発明のタンパク質; 本発明のタンパク質をコードする遺伝子; 配列番号: 1、配列番号: 2もしくは配列番号: 3のいずれかに記載の1位から621位の塩基配列からなる遺伝子、または該遺伝子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする遺伝子; 配列番号: 1、配列番号: 2もしくは配列番号: 3のいずれかに記載の1位から621位の塩基配列からなる遺伝子、または該遺伝子とストリンジェントな条件下でハイ

ブリダイズする遺伝子; 本発明のタンパク質に対する抗体; 本発明のタンパク質を含有する医薬、に関する。

「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする遺伝子」は、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 第2版第1-3巻 Sambrook, J.ら著, Cold Spring Harbor Laboratory Press出版 New York (1989年)などに記載の方法によって製造することができる。「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」とは、例えば、6×SSC、0.5%SDSおよび50%ホルムアミドの溶液中で42℃にて加温した後、0.1×SSC、0.5%SDSの溶液中で68℃にて洗浄する条件でも依然として陽性のハイブリダイズのシグナルが観察されることを表す。

【0013】

【発明の実施の形態】1) FGF-18をコードするラット、マウス及びヒトcDNAの単離と分析

17種のFGFファミリーは、保存されたコア領域(約120のアミノ酸残基)を保持し、30%から70%のアミノ酸相同性を有している。新規なFGFをコードするcDNAを単離するため、ラット成熟細胞及び胎児細胞から得られたcDNAを、FGFファミリーの核となる部分の数種類のプライマーを用いてPCR法により増幅し、クローニングした。新規なFGFをコードするcDNAフラグメントは、ラット胎児(14.5日齢)のcDNAより単離した。FGF-8のコア領域に対応するアミノ酸配列、ETDIFG(アミノ酸89-94)及びYENNYTA(アミノ酸135-140)(図2)に対応するプライマーを用いた(Tanaka, A., Miyamoto, K., Minamino, N., Takeda, M., Sato, B., Matsuo, H., and Matsumoto, K. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 8928-8932)。核酸配列の全コード領域は、ラット胎児cDNAを鋳型に用いたRapid Amplification of cDNA Ends (RACE)法により決定した。核酸配列のコード領域は、新規なFGFの完全なアミノ酸配列(207アミノ酸)に対応し、FGFファミリーのコア領域(アミノ酸45-164)を保持していた(図1)。このタンパク質は、FGFに関連して18番目に見出されたものであるため、我々は、FGF-18と命名した。また、我々は、マウス胎児(13.5日齢)及びヒト胎児より、それぞれマウスFGF-18cDNA及びヒトFGF-18cDNAを単離した。これら核酸配列は、マウスFGF-18及びヒトFGF-18のアミノ酸配列に対応しており、ラットFGF-18とアミノ酸ベースで比較するとそれぞれ99.5%、99.0%の相同性を有していた(図1)。FGFファミリーの内、FGF-18はFGF-8及びFGF-17と最も類似し、アミノ酸ベースで52.7%の相同性を有していた(図2)(Tanaka, A., Miyamoto, K., Minamino, N., Takeda, M., Sato, B., Matsuo, H., and Matsumoto, K. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 8928-8932; Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191)。

1. 18種のFGFファミリーの進化関係を分かり易く示したものが、図3である。FGF-18はFGF-8及びFGF-17に

最も近い関係にあった。

【0014】FGF-18の48位と127位に相当する2つのシステイン残基は、FGFファミリーに共通して保持されている。しかしシステイン残基は127位に見られるものの、48位のシステインがセリンに置換する場合が見られる(図1)。同様の置換は、FGF-8、FGF-10及びFGF-17の配列にも見られる(Tanaka, A., Miyamoto, K., Minamoto, N., Takeda, M., Sato, B., Matsuo, H., and Matsumoto, K. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 8928-8932; Yamasaki, M., Miyake, A., Tagashira, S., and Itoh, N. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 15918-15921; Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191)。FGF-1、FGF-2、FGF-9、FGF-10からFGF-14及びFGF-16には、それら末端に典型的なシグナル配列は見られないものの(Burgess, W.H., and Maciag, T. (1989) *Annu. Rev. Biochem.* 58, 575-606; Smallwood, P.M., Munoz-Sanjuan, I., Tong, P., Macke, J.P., Hendry, S.H., Gilbert, D.J., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., and Nathans, J. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 9850-9857)、FGF-3、FGF-4、FGF-5、FGF-6、FGF-7、FGF-8、FGF-15及びFGF-17には典型的なシグナル配列が見られ、これより分泌タンパク質であることが言える(Dickson, C., Fuller-Pace, F., Kiefer, P., Acland, P., MacAllan, D., and Peters, G. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 683, 18-26; Yoshida, T., Sakamoto, H., Miyagawa, K., Sugimura, T., and Terada, M. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 27-37; Goldfarb, M., Bates, B., Drucke, R., Hardin, J., and Haub, O. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 38-52; Coulier, F., Ollendorff, V., Marics, L., Rosnet, O., Batz, M., Planché, J., Marchetto, S., Pebusque, M.-J., deLapeyrière, O., and Birnbaum, D. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 53-61; Aaronson, S.A., Botta, R.D., Miki, T., Ron, D., Finch, P.W., Fleming, T.P., Ahn, J., Taylor, W.G., and Rubin, J.S. (1991) *Ann. NY Acad. Sci.* 638, 62-77; Miyamoto, M., Naruo, K., Seko, C., Matsumoto, S., Kondo, T., and Kurokawa, T. (1993) *Mol. Cell. Biol.* 13, 4251-4259; McWhirter, J.R., Goulding, M., Weiner, J.A., Chum, J., and Murre, C. (1997) *Development* 124, 3221-3232; Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191)。FGF-18もまた、典型的なシグナル配列である疎水性アミノ酸末端(〜27アミノ酸)を有し、分泌タンパク質として発現する。シグナル配列の分岐位置は、アミノ酸27位(E)と28位(E)との間に存在することがvon Heijne方法(von Heijne, G. (1986) *Nucleic Acids Res.* 14, 4683-4690)により判明した。

【0015】2) High Five昆虫細胞内における組織換

ラットFGF-18の発現

組織換ラットFGF-18を発現させるために、High Five昆虫細胞を3'末端にE-tag及び6X His tag配列が付加されたラットFGF-18 cDNAを含む組織換バキュロウイルスに感染させた。組織換FGF-18を調べるために、培養培地と細胞抽出物の両方をanti-E tag抗体を用いたWestern blotting分析により調べた。ほぼ28 kDaである大きなバンドは、培養培地にのみ検出され、これによりFGF-18は効率よく分泌されていることが示唆された。確認された分子量は、計算上の組織換FGF-18の分子量(23,731 Da)より大きかった。137位(N)にN-グリコシル化部位が確認されたことより、FGF-18はグリコシル化されていることが予想された。

【0016】3) 組織換ラットFGF-18の神経突起進展活性

FGFは、神経栄養性特性を有することが知られている(Baier, A. (1994) *Curr. Opin. Neurobiol.* 4, 78-86)。PC12細胞株は、神経栄養活性を研究するモデルとして提供されてきた(Greene, L.A., and Tischler, A.S. (1982) *Adv. Cell Neurobiol.* 3, 373-414)。このPC12細胞は、交感神経性の神経細胞様表現型の同化によりFGF及び神経栄養に応答する。FGF-18の生物学的活性を調べるために、FGF-18を含むHigh Five細胞の培養培地をPC12細胞に加えた。培地は、PC12細胞内における神経突起の進展を誘発した。対照的に、FGF-18を含まないコントロール培地はPC12細胞内における神経突起の進展を誘発しなかった。PC12細胞内でFGFにより誘発される神経突起の進展は、FGF受容体-1(FGFR-1)を経由して起こる。一方、他のFGF受容体(FGFR-2及びFGFR-3)はPC12細胞においては発現していない(Lin, H., Xu, J., Ornitz, D.M., Halegoua, S., and Hayman, M.J. (1996) *J. Neurosci.* 16, 4579-4587)。従って、これら結果は、FGF-18が少なくともFGFR-1を活性化できることを示唆している。

【0017】4) ラット組織及びラット胎児内におけるFGF-18 mRNAの発現

FGF-18 mRNAの成熟ラット組織内における発現を調べた。脳、心臓、肺、肝臓、腎臓及び小腸からのRNAを32PでラベルしたFGF-18 cDNAアプローブを用いてNorthern blotting分析により調べた。RNAの完全性は、ホルムアルデヒドを含む変性アガロースゲル上で電気泳動により確認した。ラベルしたアプローブは、肺のおよそ2.7 kb (bases)のmRNAにハイブリダイズした。しかし、脳、心臓、肝臓、腎臓、及び小腸では検出されなかった。FGF-18のアミノ酸配列はFGF-8及びFGF-17のアミノ酸配列と高い相同性をもつ。成熟組織において、FGF-8のmRNAの発現は、わずかで、しかも生殖組織に限定される(Heikinheimo, M., Laessle, A., Shackelford, G.M., Wilson, D.B., and MacArthur, C.A. (1994) *Mech. Dev.* 48, 129-138)。FGF-17のmRNAは、調べた主要な成熟組織では検出されない(Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Ko

nishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S. and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191. 対照的に、FGF-18のmRNAは、肺に大量に発現していた。FGF-18のmRNA発現特性は、FGF-8及びFGF-17のmRNAとは多岐に異なっていた。

【0018】ラット胎児におけるFGF-18のmRNA発現を調べるため、RNAを3種類の発達段階(10.5日齢、14.5日齢及び19.5日齢)の胎児より得て、Northern blotting分析により調べた。FGF-18のmRNAは、14.5日齢及び19.5日齢の胎児では、その発現が確認されたものの、10.5日齢の胎児からは検出されなかった。また、14.5日齢及び19.5日齢の胎児におけるFGF-18mRNAの発現は、³²SでラベルしたアンチセンスFGF-18cRNAプローブを用い、in situ hybridization法により調べ、次いでマクロオートラジオグラフィで処理した。14.5日齢の胎児では、明確な標識が4脳部、下垂体前葉、脊髄、舌、椎間板、後根神経節及び骨盤を含む多様な部位で観察された。対照的に、19.5日齢の胎児では、明確な標識は、肺や下垂体前葉などの限られた部位のみでしか観察されなかった。FGF-8のmRNAは、10.5日から12.5日齢のマウス胎児では検出されるものの、13.5日齢のマウス胎児では検出されない(Heikkinen, M., Laashe, A., Shackelford, G.M., Wilson, D.B., and MacArthur, C.A. (1994) *Mech. Dev.* 48, 129-138)。FGF-17のmRNAは、ラット胎児の14.5日齢では検出されるものの、10.5日齢及び19.5日齢のラット胎児では検出されなかった(Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191. 対照的に、FGF-18のmRNAは14.5日齢及び19.5日齢のラット胎児では検出されたものの、10.5日齢のラット胎児では検出されなかった。胎児におけるFGF-8及びFGF-17のmRNAの発現パターンは極めて限定的である(Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191. Heikkinen, M., Laashe, A., Shackelford, G.M., Wilson, D.B., and MacArthur, C.A. (1994) *Mech. Dev.* 48, 129-138)。一方、FGF-18のmRNAはラット胎児の多様な部位において発現している。胎児におけるFGF-18のmRNAの時系列的及び空間的発現パターンはFGF-8及びFGF-17の場合と多岐に異なる。発達過程において、FGFは組織発達の誘導やそのデザインに重要な役割を果たすことが明らかとされてきた。特にFGF-8は中脳および四肢の発達に重要な注目すべき分子であることが明らかにされている(Crossley, P.H., Martinez, S., and Martin, G.R. (1996) *Nature* 380, 66-68)。また、FGF-17は中脳および前脳において注目すべき分子であると考えられている(Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Yamasaki, M., Ozaki, K., Fukui, S., and Itoh, N. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 187-191)。前述のとおり、FGF-18は

発達中組織において分泌されるユニークで注目すべき分子であることが示唆された。

【0019】

【実施例】実施例1 cDNAの調製

14.5日齢ラット胎児、13.5日齢マウス胎児、7週齢の臓器から、RNA抽出キット(Pharmacia Biotech)を用いてRNAを抽出した。更に、胎児RNAからオリゴ(dT)のモロセス(Collaborative Biotech Inc.)を用いたアフィニティークロマトグラフィーによりpoly(A)⁺ RNAを調製した。ヒト肺poly(A)⁺ RNAは、Clontech社より購入した。上記のpoly(A)⁺ RNA (1~5μg)を鋳型にし、30ユニットのMoloney murine leukemia virus transcriptase (Gibco-BRL)、1.5ユニットのhuman placenta RNase inhibitor (和光純産工業)、0.5μgのrandom primer (6mer)を含む反応液中で、37℃、60分間保温し、ラット胎児、マウス胎児、ヒト肺cDNAを調製した。

【0020】実施例2 FGFファミリーの構造保存領域のFGF-8のアミノ酸配列に対応するプライマーの作成

既知のFGF間で構造が比較的よく保存されている領域におけるFGF-8の2箇所アミノ酸配列(GluThrAspThrPheGly, GluAsnAsnTyrThrAla)に対応する全ての塩基配列を含む縮重オリゴヌクレオチドプライマー(17mer)を作成した。

GluThrAspThrPheGly (配列番号: 4)
5' GARACGAGAACTTGG 3' (配列番号: 5)
GluAsnAsnTyrThrAla (配列番号: 6)
3' CTYTRTTRATRTGNGC 5' (配列番号: 7)

【0021】実施例3 cDNAの増幅

上記のラット胎児あるいはヒト肺cDNA (1μl)を鋳型にし、Taq DNAポリメラーゼ (0.05 unit/μl) (和光純産)と上記の2種類のプライマー (5 pmol/μl)を用いてPolymerase chain reaction (PCR法)によりcDNAを増幅した。反応液を8%ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した。予想される150塩基対のサイズのcDNAをゲルから、電気泳動法により抽出した。

【0022】実施例4 cDNAのスクリーニング

上記の約150塩基対のcDNAを、pGEM-T DNAベクター(Promega)に挿入し、得られた組換えDNAを大腸菌(XL1-blue株)に感染させ、cDNAクローンを得た。得られたcDNAクローンの塩基配列はDNAシーケンサ373A(Applied Biosystem)で決定した。種々のクローンを分析して、既知のFGF、FGF-8とFGF-17との構造が類似しているもの、明らかに構造が異なるcDNA断片を同定し、これをFGF-18 cDNAと命名した。

【0023】実施例5 ラット、ヒトFGF-18cDNAの全副配列の決定

ラット胎児あるいはヒト肺poly(A)⁺ RNA (1~5μg)を鋳型にし、上記のラット、ヒトFGF-18cDNAの部分構造から下記に示す複数のプライマーとMarathon cDNA amplification kit(Clontech)を用いて、ラット、ヒトFGF-18 cDNA

[0029] 実施例 1 in situ hybridization 分析

ラット胎児(14.5日齢、19.5日齢)をドライアイスで凍結させ、クリオスタットで、厚さ16μmのサジタル切片を作成し、poly-L-lysine でコーティングしたスライドガラス上に張り付けた。切片は4% formaldehyde / PBS(pH 7.5)処理、pronase K 処理、0.1M triethanolamine / 0.9% NaCl / 0.25% acetic acid 処理後、アルコールによる脱水処理、クロロホルムによる脱脂処理をした。前処理した切片を、hybridization buffer (50% formamide / 4X SSC / 2.5X Denhardt's solution / 5mM EDTA, pH8.0 / 500μg/ml yeast tRNA / 500μg/ml denatured salmon sperm DNA / 20mM dithiothreitol) 中で、55℃、1時間 prehybridization した。更に、hybridization buffer に dextran sulfate (final 1%) と³⁵S で標識した FGF-18 cDNA を、クローン化した FGF-18 cDNA を鋳型にして、uridine 5'-α-(³⁵S)-thiotriphosphate (-3

0 TBq/mmol) (Amersham) と SP6 RNA polymerase (Takara) を用いて合成した。cRNAはアルカリにより、約200baseまで水解し、hybridizationに用いた。hybridization終了後、切片を2X SSC / 10mM 2-mercaptoethanolで55℃、10分間、4回洗浄後、50μg/ml RNase A / 0.5M NaCl, 10mM Tris-HCl / 1mM EDTA, pH8.0で37℃、30分間処理した。50% formamide / 2X SSC / 1mM 2-mercaptoethanolで55℃、10分間、2回洗浄後、アルコールによって脱水し、室温にて乾燥させた。切片をX-線フィルム(Hyperfilm βmax, Amersham)に10日間露光し、現像した。更

に、切片は対比染色としてhematoxylin-eosin染色を行った。

【0030】

【発明の効果】本発明のFGF-18は発達中の軟骨間連組織及び成熟した肺組織に特異的に発現している。したがって、本発明は、FGF-18を用いた組織形成障害の予防、治療もしくは診断または肺組織障害の治療に有用な手段を提供するものである。

【0031】

【配列表】

配列番号: 1

配列の長さ: 621

配列の型: 核酸

鎖の数: 二本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: cDNA

起源

生物名: ヒト

配列:

```

ATG TAT TCT GCG CCC TCC GCC TGC ACT TGC CTG TGT TTA CAC TTC CTG 48
Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Phe Leu
                    5              10              15

CTG CTG TGC TTC CAG GTA CAG GTG CTG GTT GCC GAG GAG AAC GTG GAC 96
Leu Leu Cys Phe Gln Val Gln Val Leu Val Ala Glu Glu Asn Val Asp
                20              25              30

TTC CGC ATC CAC GTG GAG AAC CAG ACG CGG GCT CGG GAC GAT GTG AGC 144
Phe Arg Ile His Val Glu Asn Gln Thr Arg Ala Arg Asp Asp Val Ser
                35              40              45

CGT AAG CAG CTG CGG CTG TAC CAG CTC TAC AGC CGG ACC AGT GGG AAA 192
Arg Lys Gln Leu Arg Leu Tyr Gln Leu Tyr Ser Arg Thr Ser Gly Lys
                50              55              60

CAC ATC CAG GTC CTG GGC GGC AGG ATC AGT GCC CGC GGC GAG GAT GGG 240
His Ile Gln Val Leu Gly Arg Arg Ile Ser Ala Arg Gly Glu Asp Gly
                65              70              75              80

GAC AAG TAT GCC CAG CTC CTA GTG GAG ACA GAC ACC TTC GGT AGT CAA 288
Asp Lys Tyr Ala Gln Leu Leu Val Glu Thr Asp Thr Phe Gly Ser Gln
                85              90              95

GTC CGG ATC AAG GGC AAG GAG ACG GAA TTC TAC CTG TGC ATG AAC CGC 336
Val Arg Ile Lys Gly Lys Glu Thr Glu Phe Tyr Leu Cys Met Asn Arg
                100              105              110

AAA GGC AAG CTC GTG GGG AAG CCC GAT GGC ACC AGC AAG GAG TGT GTG 384
Lys Gly Lys Leu Val Gly Lys Pro Asp Gly Thr Ser Lys Glu Cys Val
                115              120              125

TTC ATC GAG AAG GTT CTG GAG AAC AAC TAC ACG GCC CTG ATG TCG GCT 432
Phe Ile Glu Lys Val Leu Glu Asn Asn Tyr Thr Ala Leu Met Ser Ala
                130              135              140

AAG TAC TCC GGC TGG TAC GTG GGC TTC ACC AAG AAG GGG CGG CCG CGG 480
Lys Tyr Ser Gly Trp Tyr Val Gly Phe Thr Lys Lys Gly Arg Pro Arg
                145              150              155              160

AAG GGC CCC AAG ACC CGG GAG AAC CAG CAG GAC GTG CAT TTC ATG AAG 528

```



```

Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln Asp Val His Phe Met Lys
      165              170              175
CGC TAC CCC AAG GGG CAG CCG GAG CTT CAG AAG CCC TTC AAG TAC ACG 576
Arg Tyr Pro Lys Gly Gln Pro Glu Leu Gln Lys Pro Phe Lys Tyr Thr
      180              185              190
ACG GTG ACC AAG AGG TCC CGT CGG ATC CGG CCC ACA CAC CCT GCC 621
Thr Val Thr Lys Arg Ser Arg Arg Ile Arg Pro Thr His Pro Ala
      195              200              205

```

【0032】

配列番号: 2

配列の長さ: 621

配列の型: 核酸

鎖の数: 二本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: cDNA

起源

生物名: ラット

配列:

```

ATG TAT TCA GCG CCC TCC GCC TGC ACT TGC CTG TGT TTA CAC TTT CTA 48
Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Phe Leu
      5              10              15
CTG CTG TGC TTC CAG GTT CAG GTG TTG GCA GCC GAG GAG AAC GTG GAC 96
Leu Leu Cys Phe Gln Val Gln Val Leu Ala Ala Glu Glu Asn Val Asp
      20              25              30
TTC CGC ATC CAT GTG GAG AAC CAG ACT CGG GCT CGC GAT GAT GTG AGT 144
Phe Arg Ile His Val Glu Asn Gln Thr Arg Ala Arg Asp Asp Val Ser
      35              40              45
CGG AAG CAG CTG CGC TTG TAC CAG CTC TAC AGC AGG ACC AGT GGG AAG 192
Arg Lys Gln Leu Arg Leu Tyr Gln Leu Tyr Ser Arg Thr Ser Gly Lys
      50              55              60
CAC ATT CAA GTC CTG GGC CGT AGG ATC AGT GCC CGT GGC GAG GAC GGG 240
His Ile Gln Val Leu Gly Arg Arg Ile Ser Ala Arg Gly Glu Asp Gly
      65              70              75              80
GAC AAG TAT GCC CAG CTC CTA GTG GAG ACG GAT ACC TTC GGG AGT CAA 288
Asp Lys Tyr Ala Gln Leu Leu Val Glu Thr Asp Thr Phe Gly Ser Gln
      85              90              95
GTC CGG ATC AAG GGC AAA GAG ACA GAG TTC TAC CTG TGT ATG AAC CGA 336
Val Arg Ile Lys Gly Lys Glu Thr Glu Phe Tyr Leu Cys Met Asn Arg
      100             105             110
AAA GGC AAG CTC GTG GGG AAG CCT GAT GGT ACT AGC AAG GAG TGC GTG 384
Lys Gly Lys Leu Val Gly Lys Pro Asp Gly Thr Ser Lys Glu Cys Val
      115             120             125
TTC ATT GAG AAG GTT CTG GAA AAC AAC TAC ACG GCC CTG ATG TCA GCC 432
Phe Ile Glu Lys Val Leu Glu Asn Asn Tyr Thr Ala Leu Met Ser Ala
      130             135             140
AAG TAC TCA GGC TGG TAC GTG GGC TTC ACC AAG AAG GGG CGG CCT CGC 480
Lys Tyr Ser Gly Trp Tyr Val Gly Phe Thr Lys Lys Gly Arg Pro Arg
      145             150             155             160
AAG GGT CCC AAG ACC CGC GAA AAC CAG CAA GAT GTG CAC TTC ATG AAG 528
Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln Asp Val His Phe Met Lys

```

【0033】

75					80				
GAC	AAG	TAT	GCC	CAG	CTC	CTA	GTG	GAG	
ACA	GAT	ACC	TTC	GGG	AGT	CAA	288		
Asp	Lys	Tyr	Ala	Gln	Leu	Leu	Val	Glu	

Thr	Asp	Thr	Phe	Gly	Ser	Gln		
				85				
90					95			
GTC	CGG	ATC	AAG	GGC	AAG	GAG	ACA	GAA
TTC	TAC	CTG	TGT	ATG	AAC	CGA	336	
Val	Arg	Ile	Lys	Gly	Lys	Glu	Thr	Glu
Phe	Tyr	Leu	Cys	Met	Asn	Arg		
			100					105
				110				
AAA	GGC	AAG	CTC	GTG	GGG	AAG	CCT	GAT
GGT	ACT	AGC	AAG	GAG	TGC	GTG	384	
Lys	Gly	Lys	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Asp
Gly	Thr	Ser	Lys	Glu	Cys	Val		
			115					120
				125				
TTC	ATT	GAG	AAG	GTT	CTG	GAA	AAC	AAC
TAC	ACG	GCC	CTG	ATG	TCT	GCC	432	
Phe	Ile	Glu	Lys	Val	Leu	Glu	Asn	Asn
Tyr	Thr	Ala	Leu	Met	Ser	Ala		
			130					135
				140				
AAG	TAC	TCT	GGT	TGG	TAT	GTG	GGC	TTC
ACC	AAG	AAG	GGG	CGG	CCT	CGC	480	
Lys	Tyr	Ser	Gly	Trp	Tyr	Val	Gly	Phe
Thr	Lys	Lys	Gly	Arg	Pro	Arg		
								145
								150
								155
AAG	GGT	CCC	AAG	ACC	CGC	GAG	AAC	CAG
CAA	GAT	GTA	CAC	TTC	ATG	AAG	528	
Lys	Gly	Pro	Lys	Thr	Arg	Glu	Asn	Gln
Gln	Asp	Val	His	Phe	Met	Lys		
								160
								165
								170
CGT	TAC	CCC	AAG	GGA	CAG	GCC	GAG	CTG
CAG	AAG	CCC	TTC	AAA	TAC	ACC	576	
Arg	Tyr	Pro	Lys	Gly	Gln	Ala	Glu	Leu
Gln	Lys	Pro	Phe	Lys	Tyr	Thr		
								175
								180
								185
								190
ACA	GTC	ACC	AAG	CGA	TCC	CGG	CGG	ATC
CGC	CCC	ACT	CAC	CCC	GCC		621	
Thr	Val	Thr	Lys	Arg	Ser	Arg	Arg	Ile
Arg	Pro	Thr	His	Pro	Gly			
								195
								200
								205

【0034】配列番号：4

配列の長さ：6

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列：

Glu Thr Asp Thr Phe Gly

5

【0035】

配列番号: 5	
配列の長さ: 17	
配列の型: 核酸	
鎖の数: 一本鎖	
トポロジー: 直鎖状	
配列の種類: 他の核酸 合成DNA	
配列:	
GARACGAYA CNTTYGG	17
【0036】配列番号: 6	配列:
配列の長さ: 6	Glu Asn Asn Tyr Thr Ala
配列の型: アミノ酸	5
トポロジー: 直鎖状	【0037】
配列の種類: ペプチド	
配列番号: 7	
配列の長さ: 17	
配列の型: 核酸	
鎖の数: 一本鎖	
トポロジー: 直鎖状	
配列の種類: 他の核酸 合成DNA	
配列:	
CTYTTTTRTRA TRTGNG	17
【0038】	
配列番号: 8	
配列の長さ: 20	
配列の型: 核酸	
鎖の数: 一本鎖	
トポロジー: 直鎖状	
配列の種類: 他の核酸 合成DNA	
配列:	
TTCGGGAGTC AAGTCGGAT	20
【0039】	
配列番号: 9	
配列の長さ: 20	
配列の型: 核酸	
鎖の数: 一本鎖	
トポロジー: 直鎖状	
配列の種類: 他の核酸 合成DNA	
配列:	
ANGAGACAGA GTTCTACGTG	20
【0040】	
配列番号: 10	
配列の長さ: 20	
配列の型: 核酸	
鎖の数: 一本鎖	
トポロジー: 直鎖状	
配列の種類: 他の核酸 合成DNA	
配列:	
TGTGTATGAA CCGAANGGCA	20
【0041】	
配列番号: 11	

【 0 0 4 2 】	配列の長さ：22 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： TTTTCCAGAA CCTTCTCAAT GA	22
【 0 0 4 3 】	配列番号：12 配列の長さ：21 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： CTCAATGAAC ACGCACTCCT T	21
【 0 0 4 4 】	配列番号：13 配列の長さ：20 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： CTCCTTGCTA GTACCATCAG	20
【 0 0 4 5 】	配列番号：14 配列の長さ：20 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： TGGCAGTCAA GTCGGGATCA	20
【 0 0 4 6 】	配列番号：15 配列の長さ：21 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： AGGGAGGAG ACAGACTTCT A	21
	配列番号：16 配列の長さ：20 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA	

【0047】	配列： GCATGAACAG GAAAGCAAG	20
	配列番号：17 配列の長さ：21 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： TCCAGGACCT TCTCAATGAA G	21
【0048】	配列番号：18 配列の長さ：21 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： GCACCTCCTT GCTGGTGCCA T	21
【0049】	配列番号：19 配列の長さ：20 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： TCAGGCTTCC CCACTAGCTT	20
【0050】	配列番号：20 配列の長さ：21 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： CGGCGATGTA TTCAGGCC T	21
【0051】	配列番号：21 配列の長さ：20 配列の型：核酸 鎖の数：一本鎖 トポロジー：直鎖状 配列の種類：他の核酸 合成DNA 配列： GGTGAGTGTG ACCGGACCTA	20
【0052】	配列番号：22	

配列の長さ: 26

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

配列:

Ala Ala Ala Gly Ala Pro Val Pro Tyr
Pro Tyr Asp Pro Leu Glu Pro

5

10

15

Arg Gly Ala Arg His His His His His
His

20

25

【図面の簡単な説明】

【図1】 ラット、マウス及びヒトFGF-18のアミノ酸配列を比較したものである。アスタリスクの有無は、それぞれの配列のアミノ酸残基の差異を示すものである。

【図2】 マウスFGF-8、マウスFGF-17及びマウスFGF-18

のアミノ酸配列を比較したものである。アスタリスクの有無は、それぞれの配列のアミノ酸残基の差異を示すものである。

【図3】 18種のFGFファミリーを、進化の関係から分類したものである。

【図1】

```

Mouse  MYSAPSACTCLCLHLLCTQVQLAAEINVDRIHVENQTRATDDVSRQQLRLYQYSR  60
Rat     MYSAPSACTCLCLHLLCTQVQLAAEINVDRIHVENQTRATDDVSRQQLRLYQYSR  60
Human  MYSAPSACTCLCLHLLCTQVQLAAEINVDRIHVENQTRATDDVSRQQLRLYQYSR  60

TSKHINQLGRRISARGGEGKQYQLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  120
TSKHINQLGRRISARGGEGKQYQLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  120
TSKHINQLGRRISARGGEGKQYQLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  120
TSKHINQLGRRISARGGEGKQYQLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  120

DTSKECVTEKVLNNYALMSAKYSQYGYGFTKGRPKGPKTRENQGVHFMGRYK  180
DTSKECVTEKVLNNYALMSAKYSQYGYGFTKGRPKGPKTRENQGVHFMGRYK  180
DTSKECVTEKVLNNYALMSAKYSQYGYGFTKGRPKGPKTRENQGVHFMGRYK  180
DTSKECVTEKVLNNYALMSAKYSQYGYGFTKGRPKGPKTRENQGVHFMGRYK  180

GQELQKPKYTYTKRSRRTPTPHG  207
GQTEQKPKYTYTKRSRRTPTPHG  207
GQELQKPKYTYTKRSRRTPTPHG  207

```

【図2】

```

FGF-8  MG-SPSALLSCLLHLLVLCLQAGV-TVQSSPNFTHMREQLSVTQGSRLIKYQYYS  58
FGF-18 MYSAPSACTCLCLHLLCTQVQLAAEINVDRIHVENQTRATDDVSRQQLRLYQYS  59
FGF-17 MGAARLPKLLCLQLLLCCQVQG-EHNPSPHNVYRQKANTIQSRQREYQYYS  59

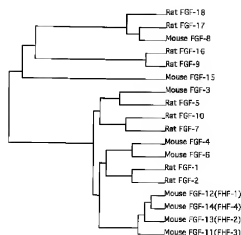
RTSGQWGLANKLLMNAEDCFPAKLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  119
RTSGQWGLANKLLMNAEDCFPAKLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  119
RTSGQWGLANKLLMNAEDCFPAKLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  119
RTSGQWGLANKLLMNAEDCFPAKLIVETDFSGVRKGGKETEFLQNRKGLYQVKP  119

SRGKGGKQYTYTYLNNYALMSAKYSQYGYGFTKGRPKGPKTRENQGVHFMGRYK  178
PETSKEEYFENLNNYALMSAKYSQYGYGFTKGRPKGPKTRENQGVHFMGRYK  178
PSGKGGKQYTYTYLNNYALMSAKYSQYGYGFTKGRPKGPKTRENQGVHFMGRYK  179

---P-RGHITTEQSLRFEHLYNPPHISLNGSRTHAPEPR  215
---P-RGHITTEQSLRFEHLYNPPHISLNGSRTHAPEPR  207
QQQLPPHMLAQKQFFPVDSAPTRATKTRSPQK  216

```

【図3】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

識別記号

F I

C 07 K 16/22

A 61 K 37/24

A D S

C 12 P 21/02

A E E